

保存料ソルビン酸の定量法

兵庫県立神戸高等学校 自然科学研究会化学班

延本美優, 不老美月

1. 背景・目的

ソルビン酸、ソルビン酸カリウムは、カビや酵母、細菌の増殖を抑えて腐敗を防ぐ保存料である。また、ソルビン酸は亜硝酸塩と結合すると発がん性物質に変化するとも言われている。食品に含まれているソルビン酸、ソルビン酸カリウムを定量するために実験を行った。

2. 食品からの抽出法

- ① 5ミリ角に刻んだかまぼこ10 gに25 mLの純水を加え、60℃で20分間湯煎した。
- ② ①の上澄みを取り、検液とした。

3. 試料

かまぼこ(B社)

4. 紫外線の吸光度で定量できるか

仮説1 文献2) にソルビン酸は、紫外線を吸収するとあったので、吸光度法で濃度を調べ、食品に含まれているソルビン酸の質量を調べられるのではないかと考えた。

4-1. 実験方法

吸収ピーク波長を調べるため、分光光度計で紫外領域のスペクトラムを調べた。

4-2. 結果

図1は1.0 mg/mLソルビン酸カリウムのスペクトラム、図2は、かまぼこの検液スペクトラムである。

ソルビン酸カリウムは波長254 nmに吸収極大がある。それに対してかまぼこ抽出液は、波長252 nmと190 nm以下の波長を吸収していた。

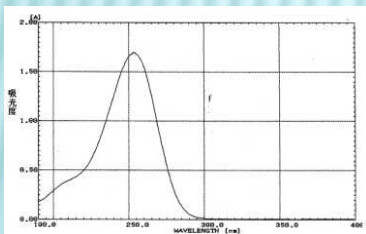


図1 ソルビン酸カリウムのスペクトラム

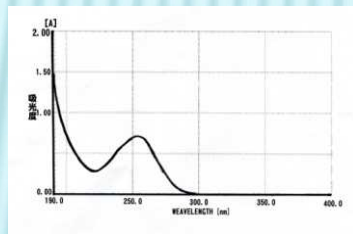


図2 かまぼこ抽出液のスペクトラム

4-3. 考察

190 nm以下に吸収があることから、食品を煮出した液の中にはソルビン酸以外の物質も溶け込んでいると考えられる。そのため、現段階では252 nmの波長を吸収している物質がソルビン酸だけなのかどうかは分からない。

また、他の物質の吸収が影響して波長252 nmの吸光度を増大させている可能性がある。これらのことから、2の方法で抽出した検液を紫外線で正確に測定するのは困難であると考えられる。

5. 呈色反応を利用し比色定量する

検証2 文献1), 2) 記載の方法で、2-チオバルビツール酸で発色させ、比色定量をすることができるか。

5-2. 実験方法

- ① 検液2.0 mLを試験管にとり、試薬Aを2.0 mL加え5分間60℃で湯煎した。
- ② 試薬Bを加えてさらに10分間湯煎した。
- ③ 5分間水で冷却し、分光光度計で波長532 nmの吸光度を調べた。

(試薬A, Bの調製については論文参照)

5-3. 検量線の制作

ソルビン酸カリウム水溶液0.10 g/Lの濃度を標準液として吸光度を調べた。

5-4. 結果①

吸光度(ABS)と濃度が比例関係を示す傾き0.0951、標準偏差0.9883検量線が描けた。

検証3 検量線を利用すれば食品中のソルビン酸量を測定できるか。

5-5. 結果②

かまぼこ抽出液を調べた結果が、表1である。

表1 波長532 nmの吸光度とソルビン酸量

	吸光度(ABS)	かまぼこ10 g中のソルビン酸量(mg)
純水	0.00	0.00
かまぼこ	2.95	0.78

5-6. 考察

532 nmで吸光度2.95だった。ソルビン酸がかまぼこ10 gあたり0.78 mg含まれていると考えられる。

ただ、どれだけ実際に添加されているのか分からないため、正確に定量できているのか気になり、製造会社に尋ねた。すると、以下のように大きな差があるとわかった。

[10 g中に含まれるソルビン酸量]

実験で得られた値	実際に添加されている値
0.78 mg	7 ~ 14 mg

実験方法を見直し、比色定量は文献通りであることから抽出に原因があると考えた。

そこで仮説4~7を立て、実験をした。

6. 抽出中の揮発が起こっていないか確かめる

仮説4 文献にソルビン酸は、揮発性があると記述されている。抽出中にソルビン酸が揮発し減っているのではないかと考えた。

6-1. 実験方法

純水と0.01 g/Lのソルビン酸カリウム水溶液を用意し、60℃で20分加熱して、加熱前後の252 nmにおける吸光度を調べた。

6-1. 実験方法

純水と0.01 g/Lのソルビン酸カリウム水溶液を用意し、60℃で20分加熱して、加熱前後の252 nmにおける吸光度を調べた。

6-2. 結果

表 2 加熱前後の254 nmにおける吸光度 (ABS)

	純水	ソルビン酸カリウム水溶液
加熱前	0.00	1.72
加熱後	0.01	1.74

6-3. 考察

加熱前後の吸光度の差はほぼなかった。わずかに加熱後の値が大きくなっているのは、水が蒸発して濃度が上がったためだと考えられる。抽出中に揮発はしていないとわかった。

7. かまぼこの大きさを変える

7-1. 実験方法

かまぼこの大きさを、すりつぶして細かくしたもの(1 mm程度)、5 mm角に切ったもの、10 mm角に切ったもの、の3種類用意して、2の方法で抽出した後、4の方法で比色定量した。

7-2. 結果

表 3 大きさを変えたときの532 nmの吸光度

	吸光度 (ABS)
純水	0.00
すりつぶし	5.23
5 mm角	5.87
10 mm角	5.66

7-3. 考察

表面積を比較するとすりつぶしが大きく、10 mm角が小さい。1かけらあたりの体積を比較すると10 mm角が大きく、すりつぶしが小さい。この関係から、体積が大きすぎるとさいころ型なので中心部分のソルビン酸が抽出できず、ソルビン酸がかまぼこの表面に付着すると仮定すると、すりつぶしは表面積が大きいので抽出量が小さくなる、と考えた。

5 mm角が最適だと分かったので、引き続き5 mm角に刻んだかまぼこを使うことにした。

8. 繰り返し抽出する

仮説6 文献1)に記載の抽出法を繰り返して行えば、食品中のソルビン酸量を正確に測定できるのではないかと。

8-1. 実験方法

- ①2で記載の通りに抽出した。
- ② 5-2に記載の通りに比色定量を行った。
- ③ ①で使用したかまぼこを取り出し、再度2の通りに抽出を行った。
- ④ ③を繰り返した。予備実験の結果から7回の抽出でほぼ吸光度が0となったため、7回抽出を行うことにした。

8-2. 結果

図4は6回実験を行い、その平均をとったものをグラフ化したものである。
2回目以降の抽出液でも、呈色が見られた。繰り返し抽出を行うことで、吸光度が次第に低くなっていった。検量線よりかまぼこ10 gあたりのソルビン酸量は合計して5.03 mgだった。



図 4 抽出回数と吸光度の変化

この結果から、抽出率を求めてみた。表4は1回目の抽出で得られたかまぼこ10 g中のソルビン酸量...①、抽出を7回繰り返して得られたかまぼこ10 g中のソルビン酸総量...②

として、①/②を求めたものである。a、b、cはそれぞれ、同一日に製造されたかまぼこである。

表 4 ソルビン酸の抽出率 [①/②の値]

実験 (試料)	①/②
1 (a)	0.288
2 (a)	0.302
3 (b)	0.335
4 (b)	0.353
5 (c)	0.311
6 (c)	0.311
平均	0.317
標準偏差	0.0212

8-3. 考察

実験結果から、食品中のソルビン酸をすべて抽出するためには、抽出作業を繰り返さなければいけないことがわかった。同一日のかまぼこにおいては、特に(c)で①/②の値がほぼ等しいことから、一定の比率(平均0.317)で抽出されると考えられる。

9. かまぼこ製作

仮説7 ソルビン酸カリウムを加えたかまぼこを自作し抽出、比色定量すれば加工後のソルビン酸カリウム量が測定できるのではないかと。

9-1. かまぼこの製作方法・実験方法

鯛100 gに対し140 mgのソルビン酸カリウム入れてかまぼこを作った。8-1と同様の方法で抽出し、比色定量を行った。

9-2. 結果

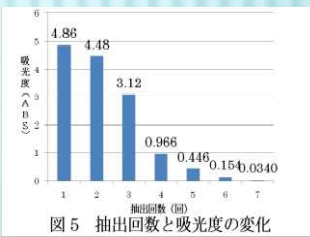


図 5 抽出回数と吸光度の変化

図5はソルビン酸カリウムを加えて自作したかまぼこの抽出液で4回実験を行いその平均をとったものである。検量線よりかまぼこ10 gあたりのソルビン酸カリウム量は、合計して3.69 mgだった。

9-3. 考察

市販のかまぼこと比べておよそ1.33 mg抽出ができていなかったのは、かまぼこの作り方が異なるので正確には分からないが、蒸し時間の差、すり身の大きさの違いが由来しているのではないかと考えられる。抽出量が添加量よりもはるかに小さいのは蒸している過程でソルビン酸が揮発していると考えた。

10. 今後の課題

今までの成果からわかった、適切な条件を組み合わせて抽出し、定量する。

11. 参考文献

- ・増尾清著, 消費者にできる食品簡易テスト 誠文堂新光社(1980) (P. 30, 31)
- ・伊達洋司・堺敬一著, 食品衛生学実験訂正版, アイ・ケイコーポレーション(2003) (P. 14, 16, 17)
- ・増田邦義 他, 食品衛生学食べ物と健康第3版, 講談社(2011) (P. 114)
- ・白石淳・小林秀光著, 食品衛生学第2版, 化学同人(2007) (P. 126)
- ・<http://ws-n-lan.com/gyokairui/kamaboko.html> (2016/7/28)